

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

Adamantan d rivs. for cyto-prot cti n f lls - pr t cts infect d and non-infect d lymphocytes and other cells, and can b us d in treating e.g. AIDs and ARC

Patent Number: DE4014672

Publication date: 1991-11-14

Inventor(s): MUELLER WERNER E G PROF DR (DE); BORMANN JOACHIM (DE); SCHATTON WOLFGANG F H DR (DE)

Applicant(s):: MUELLER WERNER E G PROF DR (DE); BORMANN JOACHIM PRIV DOZ DR (DE); SCHATTON WOLFGANG F H DR (DE)

Requested Patent: ☐ DE4014672

Application Number: DE19904014672 19900508

Priority Number (s): DE19904014672 19900508

IPC Classification: A61K31/13 ; A61K31/655

EC Classification: A61K31/13

Equivalents: .

Abstract

The use of adamantyl derivs. of formula (I) and their acid addn. salts, for the cyto-protection of non-infected and virus-infected lymphocytes and other cell types is claimed. In (I) R1 to R5 = H or 1-4C opt. branched alkyl. (I) are known cpds. (DE2219256, DE2856393, US4122193 and DE2232735).
USE/ADVANTAGE - (I) is used to treat disease where lymphocytes suffer cytopathic changes (claimed). Diseases causing such damage include HIV and human T cell leukaemia/lymphotropic virus type III. Treatment is for patients with HIV, AIDS, ARC and lymphadenopathy-associated virus (LAV) infections. The dose is 0.01-100 mg/kg, pref. in an oral dosage form which reaches the intestines. (I) may be administered simultaneously with other antiviral agents, e.g. 3'-azido-3'-desoxythymidine.
In an example, the rate of incorporation of 3H-dThd in mouse lymphocytes was measured after 5 days treatment with memantine (1-amino-3,5-dimethyladamantane), followed by killing the mice and incubating the lymphocytes in foetal calf serum. 3H-dThd was added to the culture medium. In untreated animals, the rate of incorporation was 1.47, with 1 mg/kg it was 1.98, and with 10 mg/kg it was 4.84, in units of 1000 counts/minute/million cells.

Data supplied from the **esp@cenet** database - 12

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Off nlegungsschrift
⑩ DE 40 14 672 A 1

⑤1 Int. Cl.⁸:
A61K 31/13
A 61 K 31/855
// G01N 33/53

②1 Aktenzeichen: P 40 14 672.3
②2 Anmeldetag: 8. 5. 90
②3 Offenlegungstag: 14. 11. 91

DE 40 14 672 A 1

⑦1 Anmelder:

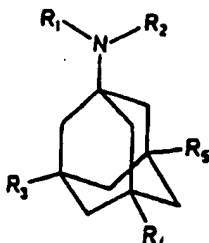
Müller, Werner E. G., Prof. Dr., 6200 Wiesbaden, DE;
Bormann, Joachim, Priv.-Doz. Dr., 3400 Göttingen,
DE; Schatton, Wolfgang F. H., Dr., 6236 Eschborn,
DE

⑦2 Erfinder:

gleich Anmelder

⑤4 Verwendung von Adamantan-Derivaten zur Zytoprotektion von nicht-infizierten und Virus-infizierten Lymphozyten als auch anderen Zelltypen

⑤7 Verwendung von Adamantan-Derivaten der Formel (I)

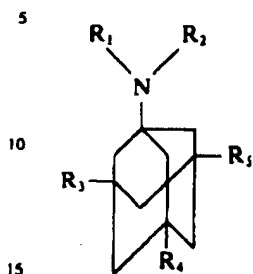


in der R_1 - und R_2 - gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder geradkettige oder verzweigt-kettige Alkylgruppen mit 1 bis 4 C-Atomen bedeuten oder R_3 - und R_4 - jeweils gleich oder verschieden sind und ausgewählt sind aus Wasserstoff, einem geradkettigen, oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, worin R_5 - Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten C_1 - C_4 -Alkylrest darstellt, sowie deren pharmazeutisch verträglichen Säureadditionssalze zur Zytoprotektion von nicht-infizierten und Virus-infizierten Lymphozyten und anderen Virus-infizierten Zelltypen. Dieser zytoprotektive Einfluß bleibt auch bei gleichzeitiger Gabe von anti-viralen Wirkstoffen, wie z. B. 3'-Azido-3'-desoxythymidin, erhalten.

DE 40 14 672 A 1

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I)



in der R_1 und R_2 gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder geradkettige oder verzweigte Alkylgruppen mit 1 bis 4 C-Atomen bedeuten oder R_3 und R_4 jeweils gleich oder verschieden sind und ausgewählt sind aus Wasserstoff, einem geradkettigen, oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, worin R_3 Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten C_1 — C_4 -Alkylrest darstellt. Hierbei bedeuten verzweigte oder geradkettige C_1 — C_4 -Alkylreste Methyl, Ethyl, iso- und n-Propyl, iso- oder n-Butyl und Isomere hiervon.

Die Erfindung umfaßt auch die pharmazeutisch verträglichen Säureadditionssalze der oben genannten Verbindungen.

Bei der Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I) zur zytoprotektiven Behandlung von Erkrankungen, bei denen Lymphozyten oder anderer Zelltypen durch zytopathische Effekte zerstört werden, bleibt der zytoprotektive Einfluß auch bei gleichzeitiger Gabe von anti-viralen Wirkstoffen, wie z. B. 3'-Azido-3'-desoxythymidin, erhalten.

Die Aminoadamantane der Formel (I) sind an sich bekannt. So ist z. B. 1-Amino-3,5-dimethyl-adamantan Gegenstand der DE-PS 22 19 256 sowie der DE-PS 28 56 393.

3,5-disubstituierte 1-Amino-adamantane der Formel (I) sind auch in der US-PS 41 22 193 beschrieben. 1-Amino-3-ethyl-adamantan ist in der DE-PS 22 32 735 beschrieben.

Allgemein werden Verbindungen der Formel (I) hergestellt durch Alkylierung von Halogen-adamantan, vorzugsweise Brom- oder Chlor-adamantan. Nachfolgende weitere Halogenierung und Alkylierung liefern die einzelnen di- bzw. trisubstituierten Adamantane.

Die Einführung der Aminofunktion erfolgt entweder durch Oxidation mit Chromtrioxid und Bromierung mit HBr oder Bromierung mit Brom und Umsetzung mit Formamid und anschließender Hydrolyse. Die Alkylierung der Aminofunktion kann nach allgemein bekannten Methoden durchgeführt werden. So läßt sich beispielsweise die Methylierung durch Reaktion mit Chlorameisensäuremethylester und nachfolgende Reduktion durchführen. Die Ethylgruppe kann durch Reduktion des entsprechenden Acetamids eingeführt werden.

Die Alkylierung der Halogen-adamantane kann z. B. durch Friedel-Crafts-Reaktion bzw. durch Reaktion mit Vinylidenchlorid, anschließender Reduktion und geeigneter Wittig-Reaktion der Aldehyde und deren Hydrierung oder durch Einschub von Ethylen und nachfolgender Alkylierung mit den entsprechenden Cupraten oder durch Einschub von Ethylen und Reduktion der Halogen-Alkyl-Adamantane oder durch Acylierung mit CO_2 und Reduktion der Carbonsäuren in an sich bekannter Weise erfolgen (siehe auch Henkel, J.G., Hane, J.T.: J. Med. Chem. 1982; 25: 51—56).

Die aus den oben genannten Druckschriften bekannten Verbindungen gemäß Formel (I) werden bislang als Mittel zur Behandlung von Morbus Parkinson und Parkinson-ähnlichen Erkrankungen therapeutisch eingesetzt (Schwab, R.S. et al.: J. Amer. Med. Ass., 208: 1168, 1968, 1969; s. a. Deutsche Patente 22 19 256, 28 56 393 und 22 32 735, U.S. Patent 4, 122, 193). Ihre Wirkungsweise wird auf eine dopaminerge Beeinflussung des ZNS zurückgeführt, vermittelt entweder durch vermehrte Freisetzung oder durch Aufnahmehemmung der Transmittersubstanz Dopamin. Dadurch wird das Ungleichgewicht im Dopamin/Acetylcholin-System aufgehoben.

Weiterhin ist bekannt, daß Derivate der Substanzklasse der Adamantane einen anti-viralen Einfluß (Müller, W.E.G.: Mechanisms of Action and Pharmacology: Chemical Agents; in Antiviral Agents and Viral Diseases of Man, ed. G.J. Galasso et al., Raven Press, 1979, 77—149) auf Zellen in Kultur und im Menschen insbesondere bei Influenza-Infektionen ausüben.

Hinsichtlich der Wirkungen von Adamantanen auf die Lymphozyten wurde für das bei Influenza-Infektionen anti-viral wirksame Adamantan-Derivat Rimantadin-Hydrochlorid bereits im therapeutischen Dosissbereich ein zytotoxischer Effekt auf periphere Blut-Lymphozyten nachgewiesen (Koff et al., Infect. Immun. 23: 665, 1979).

Auch für das Adamantan-Derivat Memantine wurde für ganz unterschiedliche Zellen des Zentralen Nervensystems eine zytotoxische Wirkung in vitro beschrieben (Osborne, N.N. et al. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 32: 1246 1982).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen erfolgversprechenden Weg zur Zytoprotektion von Lymphozyten aufzuzeigen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung der 1-Aminoadamantane der Formel (I). Es ist bekannt, daß AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) durch das Human Immunodeficiency Virus (HIV), auch genannt Human-T-Cell Leukemia/Lymphotropic Virus vom Typ III (HTLV-III) bzw. Lymphadenopathy-Associated Virus (LAV), verursacht wird.

HIV gehört zum Typ der RNA-Viren. Der Virusbefall ist die Hauptursache für ein Spektrum immunologischer Störungen, von denen AIDS in Form des Kaposi-Sarcoms oder des AIDS-related Complex (ARC) sich klinisch am schwersten manifestiert. Bei dieser Erkrankung wird ein zytopathischer Effekt auf Lymphozyten beschrieben [Rieber et al.: Grundlagen der Immunologie; in AIDS und HIV-Infektionen, hrg. von H. Jäger; Ecomed, Landsberg 1989, Seite 1–22 (Kapitel II–3.1)]. Eine wirksame therapeutische Behandlung der zytopathischen Zerstörung der Lymphozyten z. B. bei AIDS oder ARC war bis jetzt noch nicht möglich.

Deshalb war der Befund überraschend, daß Derivate von Adamantanen der allgemeinen Formel (I) einen starken zytoprotektiven Effekt auf Lymphozyten in der Zellkultur und auf Lymphozyten aus Mäusen ex vivo ausüben.

Diese Wirkung läßt erwarten, daß die oben genannten Substanzen einen zytoprotektiven Effekt bei solchen Erkrankungen zeigen, bei denen es zu zytopathischen Effekten besonders auf Lymphozyten kommt, z. B. bei der Infektion von Menschen durch Retroviren wie HIV.

Als ein Beispiel seien die zytopathischen Effekte erwähnt, die (Human Immunodeficiency virus) auftreten [Rieber et al.: Grundlagen der Immunologie; in AIDS und HIV-Infektionen, hrg. von H. Jäger; Ecomed, Landsberg 1989, Seite 1–22 (Kapitel II–3.1)].

Weiterhin wurde gefunden, daß die erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindungen auch auf Lymphozyten zytoprotektiv wirken, die durch das Human Immunodeficiency Virus (HIV) infiziert wurden. Die Verbindungen eignen sich deshalb ebenfalls zur therapeutischen und prophylaktischen Behandlung der durch das AIDS-Virus verursachten Erkrankungen.

Die nun beschriebene Erfindung läßt die therapeutische Verwendung von Adamantan-Derivaten der Formel (I) zur Lymphozytenprotektion z. B. bei der Behandlung der Immunschwäche AIDS oder ARC als sinnvoll erscheinen.

Beispiele erfindungsgemäßer Verbindungen sind:

Bsp. 1 (Memantine)	1-Amino-3,5-dimethyl-adamantan
Bsp. 2	1-N-methylamino-3,5-dimethyl-adamantan
Bsp. 3	1-Amino-3,5-diäthyl-adamantan
Bsp. 4	1-Amino-3-äthyl-5,7-dimethyl-adamantan
Bsp. 5	1-Amino-3-äthyl-adamantan
Bsp. 6	1-Amino-3-isopropyl-adamantan
Bsp. 7	1-N-äthylamino-3,5-dimethyl-adamantan
Bsp. 8	1-Amino-3-n-butyl-adamantan
Bsp. 9	1-Amino-3-n-propyl-adamantan

Bevorzugte Verbindungen der Formel (I) sind jene, worin R₁ und R₂ Wasserstoff bedeuten, wie z. B. 1-Amino-3-äthyl-5,7-dimethyl-adamantan, sowie Verbindungen, worin R₁, R₂, R₃ und R₄ Wasserstoff bedeuten, wie z. B. 1-Amino-3-äthyl-adamantan, 1-Amino-3-isopropyl-adamantan.

Weiterhin bevorzugte Verbindungen sind solche, worin R₁, R₂ und R₃ Wasserstoff bedeuten, wie z. B. 1-Amino-3-methyl-5-propyl- oder -5-butyl-adamantan.

Besonders bevorzugte Verbindungen sind 1-Amino-3,5-dimethyl-adamantan und 1-Amino-3,5-diethyl-adamantan, d. h. Verbindungen, worin R₁, R₂ und R₃ Wasserstoff bedeuten, sowie jene, worin R₁ und R₂ Wasserstoff, R₃ Methyl oder Äthyl und R₄ jeweils Methyl bedeuten, wie z. B. 1-N-Methylamino-3,5-dimethyl-adamantan und 1-N-Ethylamino-3,5-dimethyl-adamantan.

Die Adamantanderivate der Formel (I) können als solche oder in Form ihrer pharmazeutisch verträglichen Säureadditionssalze verabreicht werden. Hierzu zählen beispielsweise die Hydrochloride, Hydrobromide, Sulfate, Acetate, Succinate oder Tartrate, Additionsverbindungen mit Fumar-, Malein-, Zitronen- oder Phosphorsäure.

Die Verbindungen der Formel (I) werden in geeigneter Form in Dosierungen von 0,01 bis 100 mg/kg angewendet. Geeignete Darreichungsformen sind z. B. Kombinationen der aktiven Substanz mit gebräuchlichen pharmazeutischen Trägersubstanzen und Hilfsstoffen in Form von Tabletten, überzogenen Tabletten, Dragees, Suppositorien, halbfesten Formulierungen, Liposomen, Emulsionen, sterilen Lösungen oder Suspensionen zur Injektion. Pharmazeutisch verwendbare Träger sind z. B. Laktose, Saccharose, Sorbit, Talkum, Stearinsäure, Magnesiumstearat, Lipide, Gummi Arabicum, Maisstärke oder Cellulose, kombiniert mit Lösungsmitteln wie Wasser, Polyethylenglycol usw.

Zum Nachweis der Zytoprotektion der Verbindungen der Formel (I) wurden folgende Test-Systeme verwendet:

- A. Nachweis der Zytoprotektion von nicht-infizierten CEM-Zellen;
- B. Nachweis der Zytoprotektion von HIV-infizierten CEM-Zellen;
- C. Nachweis der Zytoprotektion von Lymphozyten ex vivo;
- D. Nachweis der Zytoprotektion von Virus-infizierten CEM-Zellen, die gleichzeitig mit einem anderen Wirkstoff behandelt wurden.

Die Durchführung der Untersuchungen in den Zellkultursystemen erfolgt wie in der Literatur beschrieben: Nicht-infizierte CEM-Zellen (permanente menschliche Leukämie-Zellen, Sechoy et al., Exp. Cell Res. 185: 122, 1989).

HIV-1-infizierte CEM-Zellen (Avramis et al., AIDS 3: 417, 1989).

Bei dem Tiermodell (ex-viv -System) wurden NMRI-Mäuse zunächst in vivo mit den Testsubstanzen behandelt. Anschließend wurden die Milz-Lymphozyten gewonnen und ex vivo in der Zellkultur deren DNA-Syntheserate bestimmt.

Die Wirkstoffe der erfindungsgemäßen Substanzen der Formel (I) wird in den folgenden Tests beschrieben:

A. Nachweis der Zytoprotektion von nicht-infizierten CEM-Zellen

Hier kam die Zelllinie CEM zur Anwendung, bei der es sich um eine klonierte menschliche Leukämie-Zelllinie handelt (Sechoy et al., Exp. Cell Res. 185: 122, 1989 und Avramis et al., AIDS 3: 417, 1989).

Versuchsdurchführung

Kultivierung von CEM-Zellen

CEM-Zellen (Sechoy et al., Exp. Cell Res. 185: 122, 1989 und Avramis et al., AIDS 3: 417, 1989) wurden entweder nicht mit Arzneimittel behandelt (Kontrollprobe) oder mit unterschiedlichen Konzentrationen an zu testender Verbindung inkubiert.

Untersuchungsparameter

1. Zellwachstum

CEM-Zellen wurden in einer Konzentration von $0,2 \times 10^6$ Zellen/ml Kultur-Medium zum Beimpfen der Kultur verwendet. Nach 4tägiger Inkubation betrug die Dichte der CEM-Zellen $1,9 \times 10^6$ Zellen/ml. Dieser Wert bildete den Kontrollwert.

Die CEM-Zellen $0,2 \times 10^6$ Zellen/ml wurden 4 Tage mit unterschiedlichen Konzentrationen von (Bsp. 1, Bsp. 2, Bsp. 3, Bsp. 4, Bsp. 9) behandelt. Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

	Konzentration des Arzneimittels ($\mu\text{g/ml}$)	Zellkonzentration $\times 10^6/\text{ml}$
Kontrolle	0	$1,91 \pm 0,24$
Bsp. 1	0,03	$1,95 \pm 0,26$
	0,1	$2,03 \pm 0,29$
	0,3	$2,59 \pm 0,31$
	1,0	$2,84 \pm 0,35$
	3,0	$2,64 \pm 0,32$
	10,0	$2,47 \pm 0,30$
	30,0	$1,85 \pm 0,28$
	80,0	$1,32 \pm 0,21$
Bsp. 2	0,03	$1,87 \pm 0,20$
	0,1	$2,33 \pm 0,24$
	0,3	$2,89 \pm 0,27$
	1,0	$2,95 \pm 0,31$
	3,0	$2,42 \pm 0,28$
	10,0	$2,04 \pm 0,19$
	30,0	$1,98 \pm 0,19$
	80,0	$1,42 \pm 0,16$
Bsp. 4	3,0	$2,32 \pm 0,28$
Bsp. 5	3,0	$2,49 \pm 0,29$
Bsp. 9	3,0	$2,47 \pm 0,31$

Die genannten Ergebnisse stellen Mittelwerte von 6 parallelen Experimenten mit den Standardabweichungen dar. Die Signifikanz wurde durch den Student's t-Test ermittelt (Sachs, L.: Angewandte Statistik. Berlin: Springer-Verlag; pp. 209—216; 1984).

Es ist ersichtlich, daß Bsp. 1 und Bsp. 2 in den Konzentrationen zwischen 0,1 und 30 $\mu\text{g/ml}$ die Wachstumsrate von CEM-Zellen auf Werte steigern, die signifikant über den Raten, die bei den Kontrollen gemessen werden, liegen. Beispielsweise bei einer Konzentration von 1 $\mu\text{g/ml}$ von Bsp. 1 steigt die Proliferationsrate auf 149% an ($P < 0,001$). Erst bei Konzentrationen über 80 $\mu\text{g/ml}$ kommt es zu einer Proliferationshemmung. Auch weitere Substanzen aus dieser Stoffklasse (Bsp. 3, 4 und 9) zeigen bei einer Konzentration von 3 $\mu\text{g/ml}$ den zytoprotektiven Effekt.

B. Nachweis der Zytoprotektion von HIV-infizierten CEM-Zellen

Dabei kam die Zelllinie CEM zur Anwendung, bei der es sich um eine klonierte menschliche Leukämie-Zelllinie handelt, in der sich das AIDS-Virus der Isolatzuordnung HTLV-IIIB (zugehörig zu HIV-1) vermehrt (M.

Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Reed und R.C. Gallo; Science 224: 497, 1984, Sechoy et al, Exp. Cell Res. 185: 122, 1989 und Avramis et al, AIDS 3: 417, 1989).

Versuchsdurchführung

HIV-Infizierung von CEM-Zellen

CEM-Zellen (Sechoy et al, Exp. Cell Res. 185: 122, 1989 und Avramis et al, AIDS 3: 417, 1989 und Popovic et al, Science: 224: 497, 1984) wurden mit Polybren (im Handel erhältliches Hexadimethrinbromid; 2 µg/ml) 30 Min. bei 37°C behandelt, polybrenfrei gewaschen und mit 2×10^5 HTLV-III-Virusteilchen (isoliert aus CEM-Zellenkulturen nach Popovic, vgl. oben) pro 4×10^5 CEM-Zellen infiziert. Ein nicht mit Arzneimittel behandelter Teil dieser Proben wurde als positive Kontrollprobe verwendet, wohingegen zu den Testproben unterschiedliche Konzentrationen an zu testender Verbindung (Bsp. 1 oder Bsp. 2) gegeben wurden.

Die HTLV-III Reverse Transkriptase-Aktivität dieser Kulturen wurde wie folgt analysiert

Die Versuchsansätze auf Reverse Transkriptase wurden in einer Reaktionsmischung (50 µl) durchgeführt, die 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 5 mM Dithiothreitol, 10 mM MgCl₂, 100 mM Kaliumchlorid, 0,01 Triton X-100 (C₈H₁₇-C₆H₄-(OCH₂CH₂)₉-OH) oder P40 (nicht-ionisches Detergens Nonidet P40, Produktbezeichnung der Fa. Sigma, d. i. Octylphenoethylenoxid-Kondensat), 10 µg/ml (dT)₁₅ · (A)_n (Hybridpolymere aus den Oligo- bzw. Polynucleotiden Oligodesoxythymidylsäure und Polyadenylsäure) als Templateprimer und ³H-Desoxythymidintriphosphat (³H-dTTP) enthält. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 37°C inkubiert und die Reaktion wurde durch Zugabe von 50 µg Hefe-tRNA und 2 ml einer 10%igen Trichloressigsäurelösung (TCA), die 1 mM Natriumpyrophosphat enthält, gestoppt. Die Proben wurden über Milliporefilter (0,45 µm) filtriert, zuerst mit 5%iger TCA-Lösung (5 x) und anschließend mit 2 ml 70%igem Ethanol gewaschen. Die Filter wurden unter einer Heizlampe getrocknet, anschließend wurde Scintillationsflüssigkeit zugegeben und die Radioaktivität in einem β-Scintillationszähler bestimmt.

Immunofluoreszenz-Assay

Die Immunofluoreszenz-Assays wurden an Methanol : Aceton (1 : 1)-fixierten Zellen unter Verwendung monoklonaler Antikörper (aus der Maus) gegen HTLV-III p17 (Gag-Protein mit MG = 17 000) und p24 (Gag-Protein mit MG = 24 000) durchgeführt. Diese beiden Proteine sind Markerproteine, welche die Anwesenheit von Viruspartikeln in den Zellen anzeigen. Die HTLV-III infizierten Zellen wurden mit oder ohne Arzneimittelbehandlung an Toxoplasma-Slides fixiert. Nach der Fixierung mit Methanol-Aceton (1 : 1) während 30 Min. bei Raumtemperatur, wurden die Slides in versiegelten Plastikbehältern bei -20°C bis zum Gebrauch aufbewahrt. Die monoklonalen Antikörper wurden auf die Zellen gegeben, bei Raumtemperatur in einer Feuchtigkeitskammer 1 h inkubiert mit PBS (Phosphatpuffer), der 0,25% Triton X-100 enthält, 2 h gewaschen. Die Zellen wurden dann 1 h mit Fluorescein (FICT) markiertem Ziege-Antimaus IgG (Capell Labs.) behandelt, und mit PBS-Puffer, der 0,25% Triton X-100 enthält, über Nacht gewaschen. Auf die Slides wurde 50%iges Glycerin gegeben und die Zellfluoreszenz wurde mit einem Zeiss-Fluoreszenzmikroskop bestimmt.

Untersuchungsparameter

1. Zellwachstum

CEM-Zellen sowie mit HTLV-IIIB infizierte CEM-Zellen wurden in einer Konzentration von $0,2 \times 10^6$ Zellen/ml Kultur-Medium zum Beimpfen der Kultur verwendet. Nach 4tägiger Inkubation betrug die Dichte der nicht-infizierten CEM-Zellen $1,91 \times 10^6$ Zellen/ml, während die Dichte der mit HTLV-IIIB infizierten CEM-Zellen lediglich $0,47 \times 10^6$ Zellen/ml war, diese beiden Werte bildeten die Kontrollwerte. Dann wurden Proben von CEM-HTLV-IIIB-Zellen $0,2 \times 10^6$ Zellen/ml 4 Tage mit unterschiedlichen Konzentrationen von (Bsp. 1 oder Bsp. 2) behandelt.

Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

	Konzentration des Arzneimittels ($\mu\text{g/ml}$)	Zellkonzentration $\times 10^6/\text{ml}$
5	K ntr lle nicht-infiziert (s. o.) 0	1,91 \pm 0,24
	Bsp. 1 1,0	2,53 \pm 0,34
	3,0	2,92 \pm 0,39
10	Kontrolle Virus-infiziert 0	0,47 \pm 0,04
	Bsp. 1 0,03	0,48 \pm 0,04
	0,1	0,59 \pm 0,04
15	0,3	0,63 \pm 0,04
	1,0	0,66 \pm 0,05
	3,0	0,72 \pm 0,06
	10,0	0,57 \pm 0,05
	30,0	0,42 \pm 0,04
20	80,0	0,21 \pm 0,03
	Bsp. 2 0,03	0,46 \pm 0,04
	0,1	0,51 \pm 0,05
	0,3	0,59 \pm 0,05
	1,0	0,63 \pm 0,05
25	3,0	0,69 \pm 0,06
	10,0	0,58 \pm 0,05
	30,0	0,44 \pm 0,04
	80,0	0,39 \pm 0,03

30 Die genannten Ergebnisse stellen Mittelwerte von 6 parallelen Experimenten mit den Standardabweichungen dar. Die Signifikanz wurde durch den Student's t-Test ermittelt (Sachs, L.: Angewandte Statistik. Berlin: Springer-Verlag; pp. 209—216; 1984).

35 Es ist ersichtlich, daß Bsp. 1 bzw. Bsp. 2 in den Konzentrationen von zwischen 0,1 und 10 $\mu\text{g/ml}$ die Wachstumsrate von nicht-infizierten als auch von Virus-infizierten CEM-Zellen auf Werte steigert, die signifikant über den Raten, die bei den Kontrollen gemessen werden, liegen. Beispielsweise bei einer Konzentration von 3 $\mu\text{g/ml}$ von Bsp. 1 steigt die Proliferationsrate auf 153% an ($P < 0,001$).

2. Inhibierung der Produktion von Reverser Transkriptase durch CEM-HTLV-III-B-Zellen, die mit Bsp. 1 oder Bsp. 2 behandelt wurden

40 Es wurde untersucht, ob die 4tägige Zugabe von Bsp. 1 oder Bsp. 2 zu CEM-HTLV-III-B-Zellen die Produktion von HTLV-III-Viren einstellt. Als Maß für die Virusmenge im Kulturmedium wurde die Reverse Transkriptase gewählt. Also die Hemmung der Reversen Transkriptase zeigt Hemmung der Virusproduktion an.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt:

	Zugegebene Verbindung	Konzentration der Verbindung ($\mu\text{g/ml}$)	Reverse Transkriptase- Aktivität (in %)
50	Kontrolle	0	100
	Bsp. 1	0,03	85
		0,1	74
		0,3	65
		1,0	71
55		3,0	83
		10,0	81
		30,0	74
	Bsp. 2	0,03	78
		0,1	70
60		0,3	68
		1,0	73
		3,0	78
		10,0	84
65		30,0	72

Die genannten Ergebnisse stellen Mittelwerte von 6 parallelen Experimenten dar.

Es ist ersichtlich, daß im Überstand der CEM-HTLV-III-B-Zellen, die nicht mit Substanz behandelt wurden

eine beträchtliche Aktivität an Reverser Transkriptase vorlag; dieser Wert wurde 100% gesetzt. Die Zugabe einer der Substanzen führte zu einer dosisabhängigen Verringerung der Reversen Transkriptase-Aktivität im Überstand. Bereits bei der Dosis von 0,3 µg/ml an Bsp. 1 wurde eine beträchtliche Inhibierung (auf 65%) beobachtet. Die erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindungen sind deshalb in der Lage, die Zellen gegen eine Virusreplikation bei Dosen zu schützen, bei denen verschiedene in vitro-Parameter, beispielsweise das Zellwachstum, nicht nachteilig beeinflusst werden.

3. Inhibierung der HTLV-IIIB p15 und p24 Expression in H9-HTLV-IIIB durch Bsp. 1 oder Bsp. 2

Es hat sich gezeigt, daß Bsp. 1 oder Bsp. 2 eine stark inhibierende Wirkung auf die Expression von HIV p24 und p15 in infizierten CEM-Zellen besitzt. Wenn die Target CEM-Zellen mit dem HTLV-IIIB-Isolat behandelt und ohne die zu testende Verbindung kultiviert wurden, wurden die CEM-Zellen infiziert und es kam, wie mittels indirekten Immunfluoreszenz-Assays festgestellt, zur Expression des p24 und p15-Proteins. Nach Inkubierung der CEM-HTLV-IIIB-Zellen mit den zu testenden Verbindungen wurde ein beinahe vollständiger Schutzeffekt beobachtet. Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

Zugegebene Verbindung	Konzentration der Verbindung (µg/ml)	Expression von p15 und p24 (in %)	
		p15	p24
Kontrolle	0	100	100
Bsp. 1	0,03	74	81
	0,1	79	84
	0,3	68	79
	1,0	65	71
	3,0	83	86
	10,0	74	65
Bsp. 2	30,0	79	63
	0,03	88	93
	0,1	73	79
	0,3	70	73
	1,0	65	61
	3,0	63	59
	10,0	74	78
	30,0	67	72

Die genannten Ergebnisse stellen Mittelwerte von 6 parallelen Experimenten dar.

Es ist ersichtlich, daß Bsp. 1 oder Bsp. 2 eine erhebliche Reduktion der Expression der HTLV-III-Proteine p15 und p24 verursacht. Beispielsweise bei einer Konzentration von 1 µg/ml an Bsp. 2 kommt es zu einer Reduktion der Expression von p15 auf 65% und von p24 auf 71%.

4. Inhibierung der HTLV-IIIB p15 und p24 Expression durch Bsp. 1 in Astrozyten-Zellen

Astrozyten-Zellen wurden wie beschrieben aus menschlichen Hirnen isoliert (J. Booker und M. Sensenbrenner; Neurobiology 2, 1972; 87-105). Diese wurden wie unter Abschnitt 3 beschrieben kultiviert und mit HTLV-IIIB infiziert und mit Bsp. 1 inkubiert. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

Zugegebene Verbindung	Konzentration der Verbindung (µg/ml)	Expression von p15 und p24 (in %)	
		p15	p24
Kontrolle	0	100	100
Bsp. 1	0,1	53	59
	1,0	42	38
	10,0	65	71

Es ist ersichtlich, daß Bsp. 1 eine erhebliche Reduktion der Expression viraler Proteine bewirkt.

C. Nachweis der Zyt protektion von Lymphozyten ex viv

Lymphozyten aus Milzen von NMRI-Mäusen wurden für die Untersuchungen benutzt. Hierzu wurden die Tiere mit den Substanzen Bsp. 1 oder Bsp. 2 mit den in der Tabelle angegebenen Dosen intraperitoneal für 5 Tage behandelt. Die Versuchsdurchführung wurde wie früher beschrieben [W.E.G. Möller, R.K. Zahn, A. Maidhof, H.C. Schröder, M. Bachmann und H. Umezawa, J. Antibiotics 37, 239 (1984)] durchgeführt. Anschließend

wurden die Tiere getötet und die Milz-Lymphozyten entsprechend unseren früheren Angaben gewonnen. Nachdem sie gewaschen waren, wurden sie in einer Konzentration von 5×10^6 Zellen/ml in RPMI 1640 Medium mit 10% fötalem Kälberserum in 1 ml Ansätzen inkubiert (G. Leyhausen et al., Antimicrob. Agents Chemother. 26: 752, 1984).

Zur Bestimmung des Wachstumsverhalten von Lymphozyten wurde der Einfluß auf die Inkorporation von radioaktivmarkiertem Thymidin (^3H -dThd) in die DNA bestimmt. Die Versuchsbedingungen waren wie früher beschrieben (G. Leyhausen et al.; s. o.). Die aus den Tieren, die mit den Substanzen wie oben angegeben, behandelt wurden, gewonnenen Lymphozyten wurden in Abwesenheit der Substanzen ex vivo und in Anwesenheit von ^3H -dThd für 24 Std. inkubiert.

Untersuchungsparameter

1) Einfluß von Bsp. 1 oder Bsp. 2 auf die Inkorporationsrate von ^3H -dThd in Lymphozyten aus Mäusen ex vivo. In Abwesenheit von Bsp. 1 oder Bsp. 2 wurden in Lymphozyten eine Inkorporationsrate von $1,47 \times 10^3$ Zerfälle pro Minute $\times 10^6$ Zellen gemessen.

	Behandlung der Tiere mit Substanz (5 Tage) (mg/kg pro Tag)	Inkorporation der Lymphozyten ex vivo ($\times 10^3$ Zerfälle pro Minute $\times 10^6$ Zellen)
	ohne Substanz	$1,47 \pm 0,19$
Bsp. 1	1	$1,98 \pm 0,22$
	3	$2,72 \pm 0,29$
	10	$4,84 \pm 0,50$
	30	$3,17 \pm 0,44$
Bsp. 2	1	$1,74 \pm 0,21$
	3	$3,29 \pm 0,29$
	10	$4,18 \pm 0,38$
	30	$3,87 \pm 0,36$

Die Mittelwerte wurden aus 6 parallelen Ansätzen ermittelt.

Diese Untersuchungsreihe zeigt, daß nach einer Vorbehandlung der Mäuse mit Dosen von 3 bis 30 mg/kg an Bsp. 1 oder Bsp. 2 für 5 Tage, die dann entnommenen Milz-Lymphozyten ex vivo eine signifikant erhöhte — bei 10 mg/kg (5täglich angewandt) von Bsp. 1 auf 329% ansteigend ($P < 0,001$) — DNA-Synthese aufweist. Die Signifikanz wurde durch den Student's t-Test ermittelt (Sachs, L.: Angewandte Statistik. Berlin: Springer-Verlag; pp. 209 — 216; 1984).

D. Nachweis der Zytoprotektion von Virus-infizierten CEM-Zellen, die gleichzeitig mit einem anderen Wirkstoff behandelt wurden

Dabei kam wieder die Zelllinie CEM zur Anwendung; siehe oben.

Versuchsdurchführung

HIV-Infizierung von CEM-Zellen.

Siehe oben.

Zusätzlich zu den Wirksubstanzen Bsp. 1 oder Bsp. 2 wurde noch 3'-Azido-3'-desoxythymidin (ab jetzt abgekürzt: AZT) gegeben.

Untersuchungsparameter

1. Zellwachstum

CEM-Zellen sowie mit HTLV-IIIb infizierte CEM-Zellen wurden in einer Konzentration von $0,2 \times 10^6$ Zellen/ml Kultur-Medium zum Beimpfen der Kultur verwendet. Nach 4tägiger Inkubation betrug die Dichte der nicht-infizierten CEM-Zellen $1,91 \times 10^6$ Zellen/ml, während die Dichte der mit HTLV-IIIb infizierten CEM-Zellen lediglich $0,47 \times 10^6$ Zellen/ml war, diese beiden Werte bildeten die Kontrollwerte.

Dann wurden Proben von CEM-HTLV-IIIb-Zellen $0,2 \times 10^6$ Zellen/ml 4 Tage mit konstanten Konzentrationen an den Wirksubstanzen Bsp. 1 oder Bsp. 2 und steigenden Konzentrationen an AZT behandelt.

	Konzentration der Testverbindung ($\mu\text{g/ml}$)	AZT Konzentration ($\mu\text{g/ml}$)	Zellkonzentration $\times 10^6/\text{ml}$	
Kontrolle nicht-infiziert (s. o.)	0	0	$1,91 \pm 0,24$	5
Kontrolle Virus-infiziert	0	0	$0,47 \pm 0,04$	10
Bsp. 1	0 ($\mu\text{g/ml}$)	0,003 ($\mu\text{g/ml}$)	$1,04 \pm 0,09$	
	0	0,03	$1,73 \pm 0,18$	
	0	0,3	$1,84 \pm 0,19$	
Bsp. 2	3 ($\mu\text{g/ml}$)	0,003 ($\mu\text{g/ml}$)	$1,16 \pm 0,12$	15
	3	0,03	$1,89 \pm 0,16$	
	3	0,3	$1,96 \pm 0,21$	
Bsp. 1	3 ($\mu\text{g/ml}$)	0,003 ($\mu\text{g/ml}$)	$1,09 \pm 0,08$	
	3	0,03	$1,86 \pm 0,18$	
	3	0,3	$1,88 \pm 0,19$	20

Die genannten Ergebnisse stellen Mittelwerte von 6 parallelen Experimenten mit den Standardabweichungen dar. Die Signifikanz wurde durch den Student's t-Test ermittelt (Sachs, L.: Angewandte Statistik. Berlin: Springer-Verlag; pp. 209—216; 1984).

Es ist ersichtlich, daß Bsp. 1 und Bsp. 2 (in der Konzentration von $3 \mu\text{g/ml}$) in Kombination mit AZT, die durch letztere Substanz bewirkte Stimulierung der Wachstumsrate von Virus-infizierten CEM-Zellen nicht herabsetzt, sondern sogar noch additiv steigert. Beispielsweise bei einer Kombination von $3 \mu\text{g/ml}$ von Bsp. 1 mit $0,03 \mu\text{g/ml}$ an AZT steigt die Proliferationsrate von $1,73 \times 10^6$ (4-Tage-Inkubation ohne Bsp. 1) auf $1,89 \times 10^6$ (4-Tage-Inkubation mit Bsp. 2) an ($P < 0,10$).

Die Erfindung wird weiterhin durch folgende Beispiele veranschaulicht

Die Mittel enthalten eine zur Prophylaxe und Behandlung von Lymphozyten, die einem zytopathischen Agens ausgesetzt sind, eine wirksame oder Zytopathie-beseitigende Menge wenigstens einer Verbindung aus der Klasse der Amantadine, gegebenenfalls zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger und Hilfsstoffen. Beispielsweise enthalten derartige pharmazeutische Mittel 0,5 bis 98 Gew.-% mindestens einer erfindungsgemäßen Verbindung zusammen mit einem pharmazeutischen Träger.

Das Verfahren zur Behandlung von zytopathischen Effekten auf Lymphozyten umfaßt die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge an Derivaten der Amantadine davon an einen Patienten, der dieser Behandlung bedarf.

Die Dosierung hängt in erster Linie von der spezifischen Verabreichungsform und vom Zweck der Therapie ab. Die Größe der Einzeldosen sowie das Verabreichungsschema können am besten anhand einer individuellen Beurteilung des jeweiligen Krankheitsfalles durch den Arzt bestimmt werden, wobei das Alter, das Gewicht und der Zustand des Empfängers, der Verabreichungsweg und die Art und die Schwere der Krankheit berücksichtigt werden müssen. Im allgemeinen beträgt die Tagesdosis 2—20, vorzugsweise 3—10, insbesondere 6—7 mg/kg Körpergewicht.

Die Dauer der Behandlung richtet sich nach Art und Schwere der Erkrankung. Sie erstreckt sich im allgemeinen über mehrere Wochen, beispielsweise 4 bis 8 Wochen.

Wenn das Mittel in einer Form einer Doseinheit vorliegt, enthält diese vorzugsweise 50 bis 500 mg der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindung.

Die pharmazeutischen Mittel können zur oralen Verabreichung in fester Form, beispielsweise als Tabletten, Pastillen, Kapseln, Pulver, oder in flüssiger Form, beispielsweise als wäßrige oder ölige Suspension, Emulsionen, liposomalen Zubereitungen, Sirup, Elixier, Lösung oder mit Flüssigkeit gefüllte Kapseln vorliegen.

Bevorzugte orale Mittel liegen in der Form von Tabletten oder Kapseln vor und können übliche Träger, wie Bindemittel (z. B. Sirup, Akazia, Gelatine, Sorbit, Tragant oder Polyvinylpyrrolidon), Füllstoffe (z. B. Lactose, Zucker, Maisstärke, Kartoffelstärke, Calciumphosphat, Sorbit oder Glycin), Gleitmittel (z. B. Magnesiumstearat, Talk, Polyethylenglykol oder Siliciumdioxid), Disintegrationsmittel (z. B. Stärke) und Netzmittel (z. B. Natriumlaurylsulfat), enthalten.

Mittel zur parenteralen Verabreichung liegen im allgemeinen in Form einer Lösung oder Suspension der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindung zusammen mit üblichen pharmazeutischen Trägern vor, beispielsweise in Form einer wäßrigen Lösung für intravenöse Injektion oder einer öligen Suspension für die intramuskuläre Injektion. Zur parenteralen Verabreichung geeignete Mittel erhält man, indem man 0,1 bis 10 Gew.-% der erfindungsgemäßen Verbindung in Wasser oder einem Träger, der aus einem aliphatischen Polyalkohol, wie Glycerin, Propylenglykol oder Polyäthylenglykol oder einer Mischung davon besteht, löst. Die Polyäthylenglykole bestehen aus einer Mischung nicht flüchtiger, gewöhnlich flüssiger Polyäthylenglykole, die sowohl in Wasser als auch in organischen Flüssigkeiten löslich sind und deren Molekulargewichte von 200 bis 1500 reichen.

Pharmazeutische Mittel zur rektalen Verabreichung liegen in Form von Suppositorien vor, wobei die erfindungsgemäßen Verbindungen einer geeigneten Suppositoriengrundlage, wie Kakaobutter, gehärtete Fette, Polywachs oder Polyethylenglykole, in einer Menge von 1 bis 10 Gew.-% einverleibt sind.

Die Herstellung der pharmazeutischen Mittel erfolgt anhand üblicher Verfahren, beispielsweise durch Tabletieren, Einverleiben der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindungen in eine Suppositoriengrundlage, Sterilfiltration und Abfüllen in Ampullen oder Tropfflaschen einer Lösung der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindungen in Injektionswasser zusammen mit üblichen Zusätzen, wie Natriumchlorid, Natriumhydrogenphosphat, Dinatrium-EDTA (Ethyldiaminotetra-essigsäuredinatriumsalz), Benzylalkohol oder Natriumhydroxyd zur Einstellung des pH.

In den nachfolgenden Formulierungsbeispielen kann als Wirkstoff jeweils eine der erfindungsgemäß zur Anwendung kommenden Verbindungen einzeln oder im Gemisch mit einer anderen erfindungsgemäßen Verbindung oder mit einem anderen anti-viralen Mittel eingesetzt werden.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfindung:

Beispiele für pharmazeutische Mittel

Beispiel a

Tablettenformulierung

Wirkstoff 10 mg
Lactose 18 mg
Kartoffelstärke 38 mg
Gelatine 2 mg
Talkum 2 mg
Magnesiumstearat 0,1 mg

Beispiel b

Tablettenformulierung

Wirkstoff 10 mg
Kartoffelstärke 40 mg
Polyvinylpyrrolidon 5 mg

Die Tabletten können mit einer gefärbten Zuckerschicht überzogen werden.
Die Drageehülle kann bestehen aus:

Zucker	65,0 mg
Talkum	39,0 mg
Calciumcarbonat	13,0 mg
Gummiarabicum	6,5 mg
Maisstärke	3,7 mg
Schellack	1,1 mg
Polyethylenglykol 6000	0,2 mg
Magnesia usta	1,3 mg
Farbstoff	0,2 mg
	<u>130,0 mg</u>

Gesamtdragec-Gewicht bei einem Kern von 50 mg = 180 mg.

Beispiel c

Kapselformulierung

Wirkstoff 10 mg
Maisstärke 90 mg
Lactose 50 mg
Talkum 2 mg

Diese Mischung wird in Gelatinekapseln gefüllt.

Beispiel d

Flüssige orale Formulierung

Wirkstoff 2 g
 Saccharose 250 g
 Glucose 300 g
 d-Sorbit 150 g
 Agar-agar 0,15 g
 Methylparaben 0,5 g
 Propylparaben 0,05 g
 Geschmackstoff (Orangengeschmack) 10 g
 Tartrazin gelb
 Gereinigtes Wasser auf 1000 ml

5

10

Beispiel e

Flüssige orale Formulierung

Wirkstoff 2 g
 Tragacanth 7 g
 Glycerin 50 g
 Saccharose 400 g
 Methylparaben 0,5 g
 Propylparaben 0,05 g
 Geschmackstoff (Geschmack von schwarzer Johannisbeere)
 Roter Farbstoff Nr. 2C.E.184 0,02 g
 Gereinigtes Wasser auf 1000 ml

15

20

25

Beispiel f

Flüssige orale Formulierung

Wirkstoff 2,4 g
 Saccharose 400 g
 Tinktur von Bitterorangenschalen 20 g
 Tinktur von Süßorangenschalen 15 g
 Gereinigtes Wasser auf 1000 ml

30

35

Beispiel g

Injektionslösung

Zur Herstellung einer 0,5%igen Lösung werden 0,5% Wirkstoff und 0,8% Natriumchlorid DAB 9 in bidestilliertem Wasser gelöst. Die Lösung wird durch ein Entkeimungsfilter filtriert, in 2 ml Ampullen abgefüllt und bei 12°C im Autoklaven sterilisiert.

40

Beispiel h

Infusionslösung

Zur Herstellung einer 0,01%igen Infusionslösung werden 0,01% Wirkstoff und 5% Laevulose in bidestilliertem Wasser gelöst. Die Lösung wird durch Entkeimungsfilter filtriert, in 500 ml Infusionsflaschen abgefüllt und sterilisiert.

45

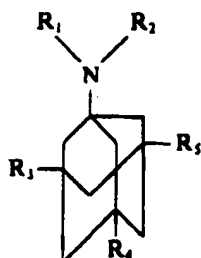
50

Das Beispiel bezieht sich auf 50 mg Wirkstoff pro Einzeldosis.

Patentansprüche

1. Verwendung von Adamantan-Derivaten der Formel (I)

55



60

65

in der R_1 und R_2 gleich oder verschieden sind und Wasserstoff oder geradkettige oder verzweigt-kettige Alkylgruppen mit 1 bis 4 C-Atomen bedeuten oder R_3 und R_4 jeweils gleich oder verschieden sind und ausgewählt sind aus Wasserstoff, einem geradkettigen, oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, worin R_5 Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten $C_1 - C_4$ -Alkylrest darstellt, sowie deren pharmazeutisch verträglichen Säureadditionssalze zur Zytoprotektion von nicht-infizierten und Virus-infizierten Lymphozyten und anderen Virus-infizierten Zelltypen. Dieser zytoprotektive Einfluß bleibt auch bei gleichzeitiger Gabe von anti-viralen Wirkstoffen, wie z. B. 3'-Azido-3'-desoxythymidin, erhalten.

2. Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I) zur zytoprotektiven Behandlung von Erkrankungen, bei denen Lymphozyten durch zytopathische Effekte zerstört werden.

3. Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I) zur zytoprotektiven Behandlung von Erkrankungen, bei denen andere (auch Virus-infizierte) Zelltypen durch einen zytopathischen Effekt zerstört werden.

4. Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I) zur zytoprotektiven Behandlung von Erkrankungen, bei denen Lymphozyten oder andere Zelltypen durch zytopathische Effekte zerstört werden.

5. Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I) sowie deren pharmazeutisch verträglichen Salze, zur Herstellung eines Medikamentes zur Behandlung von Erkrankungen, bei denen Lymphozyten oder andere Zelltypen durch zytopathische Effekte zerstört werden.

6. Verwendung von Adamantan-Derivaten der allgemeinen Formel (I) zur zytoprotektiven Behandlung von Erkrankungen bei gleichzeitiger Gabe von anti-viralen Wirkstoffen, wie z. B. 3'-Azido-3'-desoxythymidin.

June 4, 1990	8130	Withdrawal
June 1994	8110	Request for examination paragraph 44
Nov. 14, 1991	A1	Laying open for public inspection
May 8, 1990	AE	Domestic application

Family:

none

Other Abstract Info:

none

Foreign References:

No patents reference this one